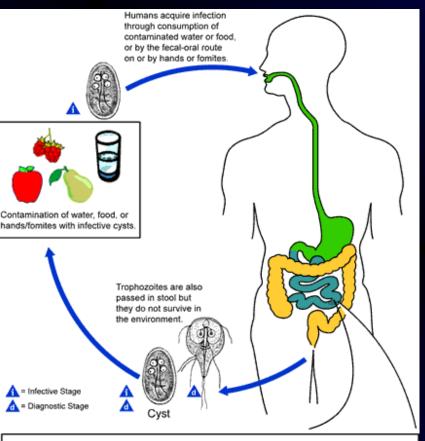
17 dicembre 2012

Dr.ssa Manuela Pegoraro
U.O.C. di Microbiologia e Virologia
A.O.U.I. di Verona

PROTOZOI
ed
ELMINTI INTESTINALI

PRINCIPALI PROTOZOI di INTERESSE MEDICO

	PARASSITI	COMMENSALI
Flagellati	*Giardia intestinalis* *Dientamoeba fragilis* *Trichomonas vaginalis* *Leishmania spp* *Tripanosoma spp*	*Chilomastix mesnili* *Enteromonas hominis* *Retortomonas intestinalis* *Trichomonas hominis*
Amebe	*Entamoeba histolytica*	*Entamoeba dispar* *Entamoeba hartmanni* *Entamoeba coli* *Entamoeba polecki* *Endolimax nana* *Iodamoeba buetschlii* *Blastocystis hominis* *Entamoeba moshkovskii*
Sporozoi	*Plasmodium spp* *Toxoplasma gondii* *Cryptosporidium* spp *Isospora belli*	

protozoi intestinali: *Giardia intestinalis*

- ✓ giardiasi: parassitosi intestinale più frequente (incidenza: 3 milioni nuovi casi/anno);
- ✓ parassita intestinale obbligato, monoxeno; > 40 specie di *Giardia* spp; *G. intestinalis* infetta anche l'uomo;
- ✓ trasmissione per via oro-fecale indiretta (acqua e cibi contaminati) e diretta (pratiche sessuali, promiscuità in comunità chiuse);
- ✓ ubiquitario (> prevalenze nelle aree tropicali e sub-tropicali); epidemie "waterborne" nei paesi sviluppati (resistenza delle cisti a bassi livelli di clorazione); 5% casi di diarrea del viaggiatore;

trofozoiti di *Giardia intestinalis*

- sono le forme vegetative, responsabili del quadro patologico;
- forma "a foglia" o "ad aquilone" (dimensioni 10-20 µm);
- 2 nuclei;
- 4 paia di flagelli;
- un assostilo;
- superficie dorsale convessa, superficie ventrale concava (disco adesivo);

ANOFEL

cisti di *Giardia intestinalis*
- le cisti sono le forme di resistenza ambientale e le forme infettanti;
- hanno forma ovalare (dimensioni 8-12 µm);
- 4 nuclei;

ANOFEL

clinica:

- infezione sub-clinica asintomatica (soggetti adulti → serbatoio di infezione);
- enterite acuta (bambini e turisti da aree ad alta prevalenza): diarrea protratta (> 14 *gg*), dolori addominali, malessere generale e calo ponderale;
- enterite protratta (bambini): calo ponderale, steatorrea, deficit di accrescimento;

associazione con specifici genotipi (???) ←

diagnosi:

- rilevazione nelle feci delle forme diagnostiche (cisti/trofozoiti)
  - es. microscopico dopo concentrazione;
  - es. microscopico dopo colorazioni permanenti;

☹ necessità di esaminare più campioni di feci (almeno 6 campioni) per l'irregolarità di eliminazione del parassita;

- rilevazione di coproantigeni specifici: EIA; IF
- "entero-test": esame microscopico di aspirato duodenale;

CENNI TERAPEUTICI

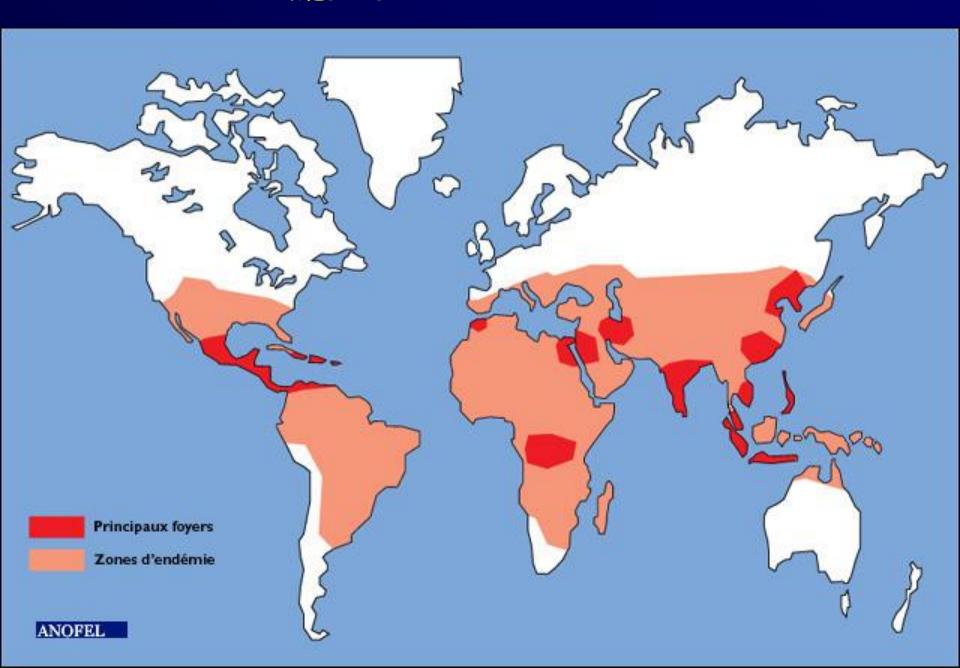
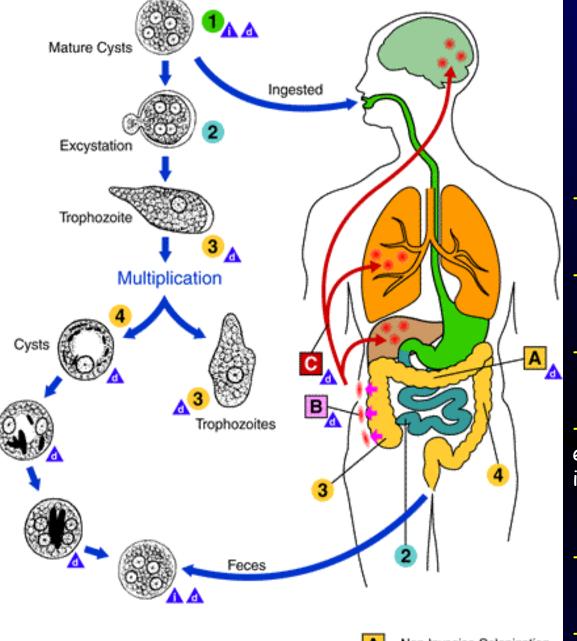
- ✓ derivati 5-nitroimidazolici:
  - tinidazolo: monodose 2 g;
  - metronidazolo: 750 mg/die per 5 gg;
- ✓ paromomicina: 30 mg/Kg/tid per 7 gg; (II scelta);
- ✓ nitazoxanide: NOVITA' !!! (non in commercio in Italia)

protozoi intestinali: ***Entamoeba histolytica***

- ✓ unica ameba patogena: **amebiasi**
- ✓ parassita intestinale obbligato, monoxeno, di cui l'uomo è l'ospite principale;
- ✓ epidemiologia e clinica → (???) → *E. histolytica / E. dispar* (Eh/Ed) (morfologicamente indistinguibili)

epidemiologia: - Eh/Ed é ubiquitaria con aree di iperendemia(Africa sett. e sub-sahariana, medio Oriente, America centro-meridionale);

- trasmissione è interumana per via oro-fecale indiretta (acqua e/o cibo contaminati) o diretta (pratiche sessuali)

AMEBIASI: aree di distribuzione

- ingestione cisti mature;

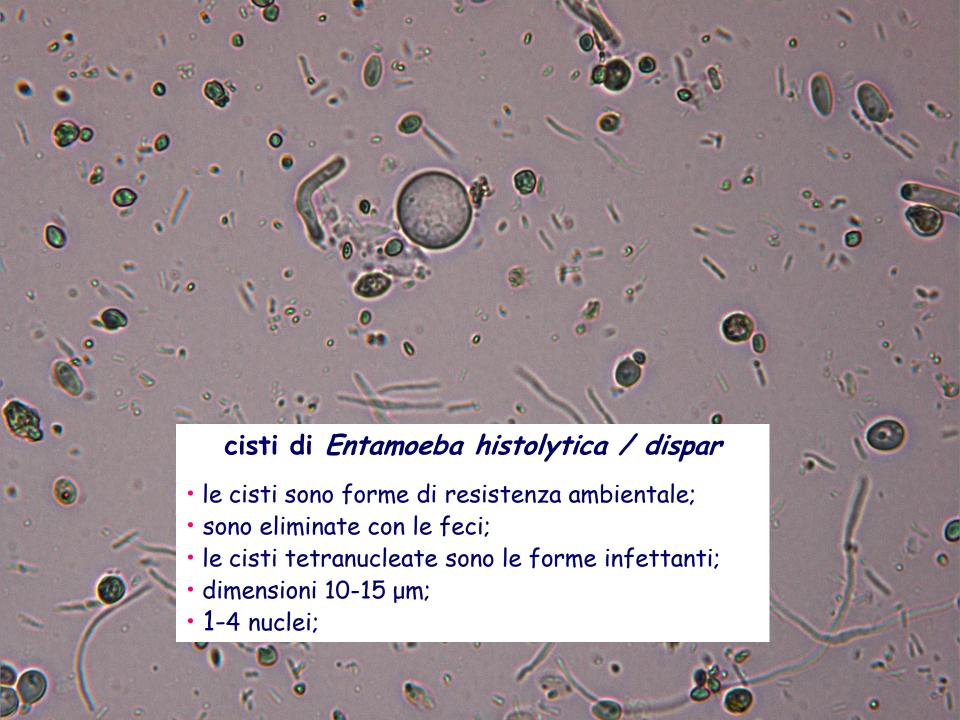
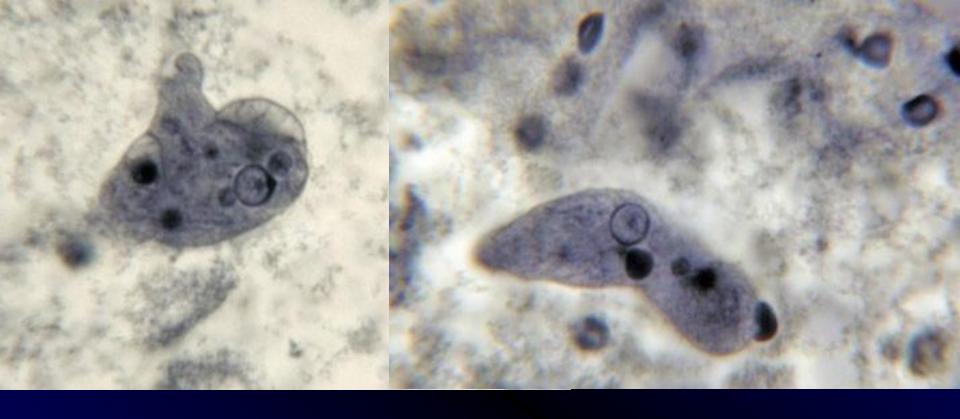
- stomaco: lisi parete cistica;

- duodeno: liberazione trofozoiti;

- cieco e colon ascendente: localizz. elettiva dei trofozoiti → possibile invasione della mucosa/parete int.;

- colon disc., sigma: incistamento;

- eliminazione cisti con le feci;

cisti di *Entamoeba histolytica / dispar*
• le cisti sono forme di resistenza ambientale;
• sono eliminate con le feci;
• le cisti tetranucleate sono le forme infettanti;
• dimensioni 10-15 µm;
• 1-4 nuclei;

trofozoiti di *Entamoeba histolytica*

- forma vegetativa responsabile delle lesioni alla mucosa intestinale e agli organi coinvolti nei quadri extra-intestinali;
- forma irregolare (15-60 μm), mobile;
- mononucleato; citoplasma pieno di vacuoli (fagolisosomi);
- presenza di emazie nel citoplasma è l'unico elemento microscopico che permette la differenziazione di *E. histolytica* da *E. dispar*;
- sopravvivenza molto limitata all'esterno del tratto intestinale;

AMEBIASI INVASIVA : patogenesi

1) adesione agli enterociti

2) citolisi (“amoebapores”; proteasi citoplasmatiche)

3) fagocitosi

4) induzione apoptosi

↓

contatto trofozoiti – fibronectina

↓

1) riarrangiamento del citoscheletro (modifiche nell’aderenza e nella motilità)

2) secrezione di cisten-proteinasi

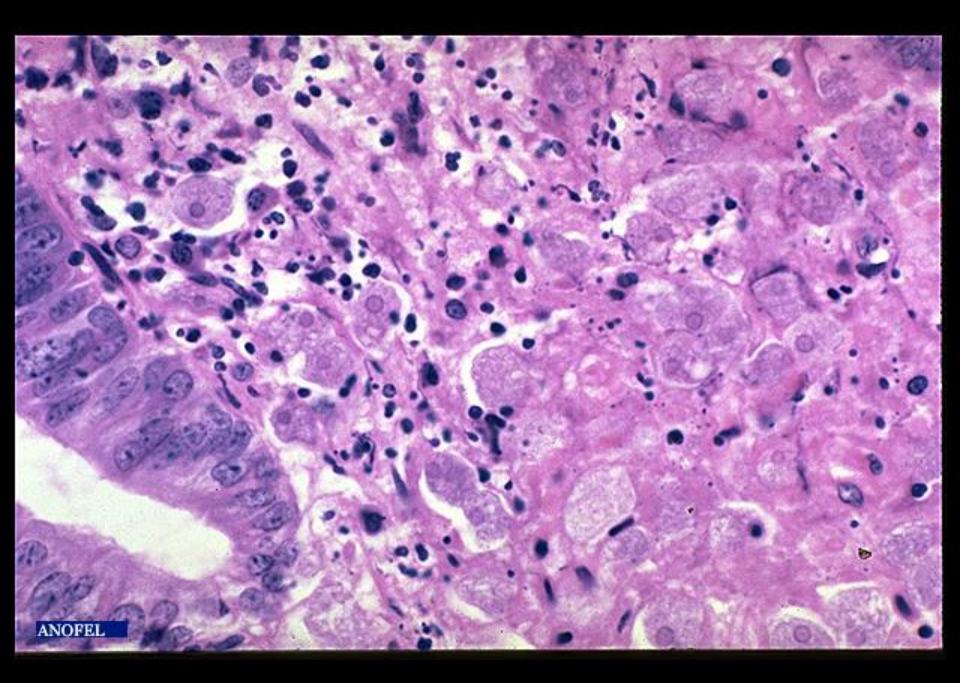
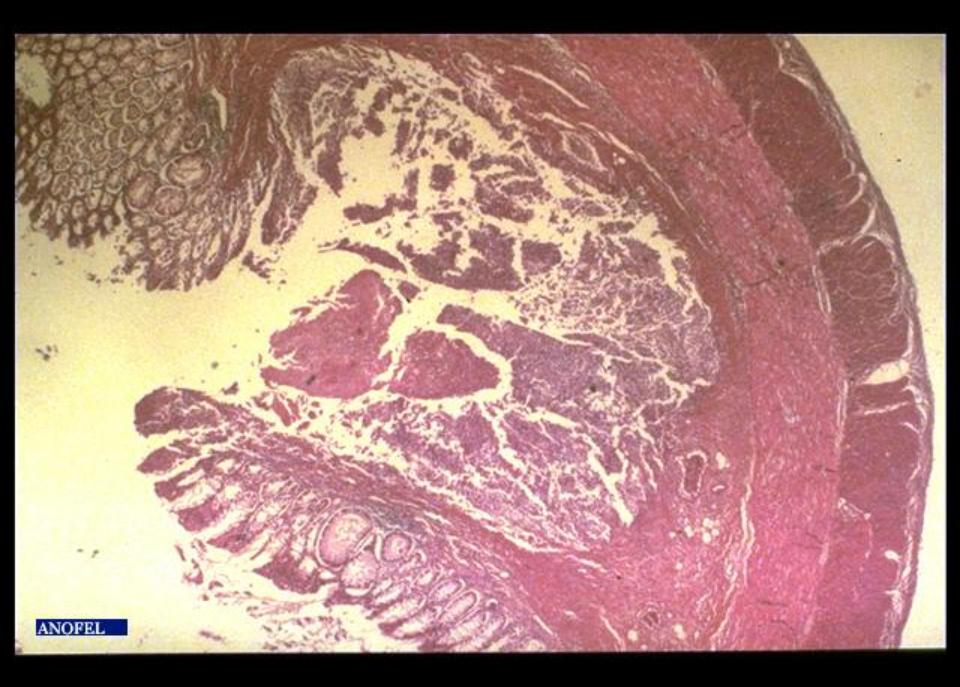
↓

invasione della sottomucosa (“ulcere a fiasco”)

↓

superamento barriera intestinale: AMEBIASI EXTRAINTESTINALE

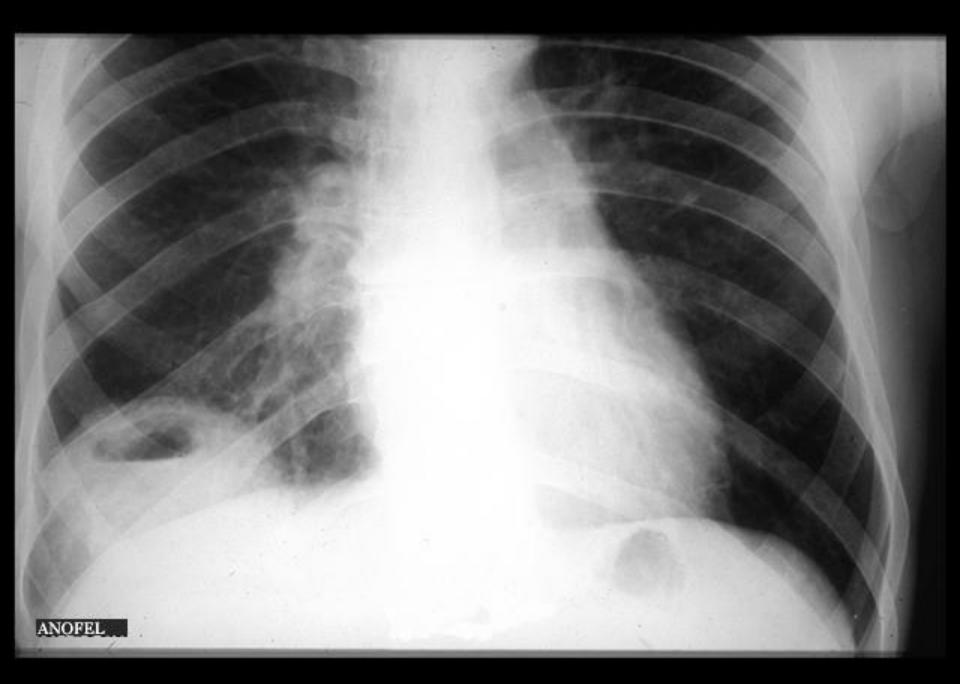
ANOFEL

ANOFEL

clinica:

- **forme sub-cliniche asintomatiche** (75-80% sostenute da *E. dispar* ; 10-15% colonizzazioni da *E. histolytica* → d.d.!!!)

- **colite amebica non invasiva** (soggetti adulti autoctoni di aree endemiche); alvo irregolare, saltuarie addominalgie;

- **rettocolite acuta dissenterica** (bambini; turisti; omosex HIV +); diarrea muco-ematica; possibili complicanze: perforazione intestinale → peritonite batterica (frequente), ulcere cutanee perineali e genitali (rara);

- **amebiasi extraintestinale** (secondaria ad una rettocolite acuta dissenterica per disseminazione ematica dei trofozoiti); localizzazione epatica (80% dei casi) e polmonare. Formazione di pseudo-ascessi (parenchima colliquato);

TOMOSCAN SR6000
L
-100.0
0.0
C
300
3
F/S
20KU
75MA
A
1
B
:-120,+112
MN=+33.3
SD=5.83
#P=32
AR=11.0
A:-097,+150
B:-128,+067
A-B=51.9
<=+69.5
W293
+59
BG:1
BH:0
CA:3
AC:6
512*512
ANOFEL

ANOFEL

diagnosi: × rilevazione nelle feci delle forme diagnostiche (cisti/trofozoiti)

- es. microscopico dopo concentrazione (3 camp. a gg alterni)
- es. microscopico dopo colorazioni permanenti
- ricerca di Ag specifici (*E.h./E.d.* ; *E.h.* vs *E.d.*)

↓

differenziare nell'ambito del complesso *E.histolytica/E.dispar* :

↓

TROFOZOITI
(isolamento colturale "produzione" di trofozoiti in presenza di cisti);

↓

- × ric. di ag specifici di *E.h;*
- × tipizzazione isoenzimatica

Altri approcci…

- × ric. ac. nucleici (biol. mol.)
- × ric. sierologica

CENNI TERAPEUTICI

- portatori asintomatici *E.h.*: paromomicina (2g/die pe 7-10 *gg*)
- amebiasi sintomatica: metronidazolo (750mg tid x 14 *gg*)
  nitazoxanide

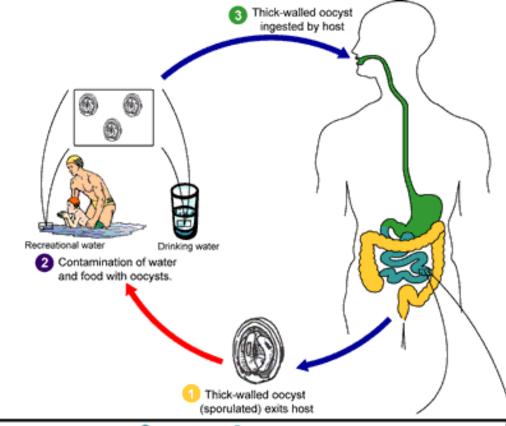
protozoi intestinali: *Cryptosporidium* spp.

- coccidio (ph. Sporozoa); parassita obbligato, monoxeno;
- 14 le specie riconosciute (7 patogene umane: 2 le più comuni);
- ampio serbatoio animale (↓ specificità parassitaria);

Specie	Ospiti
C. hominis	uomo, pecora, dugongo
C. parvum	uomo, bovino, pecora, capra, cavallo, cervo
C. meleagridis	tacchino, pollo, uomo
C. canis	cane, uomo
C. felis	gatto, bovino, uomo
C. muris	topo, scoiattolo, cammello, uomo
C. suis	suini, uomo

Epidemiologia: ✓ distribuzione cosmopolita;

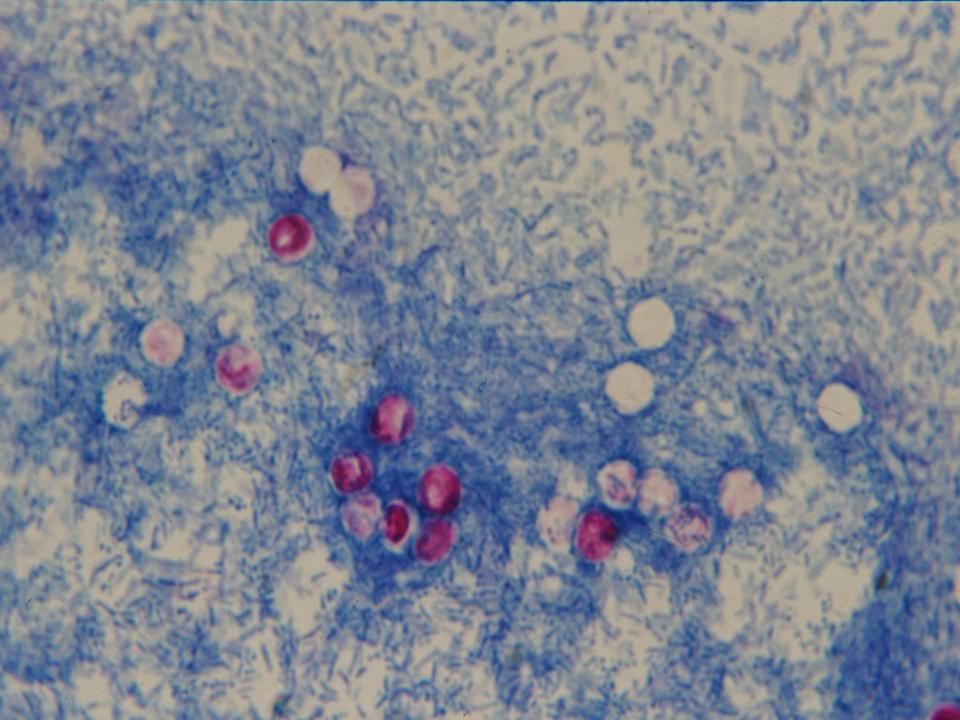
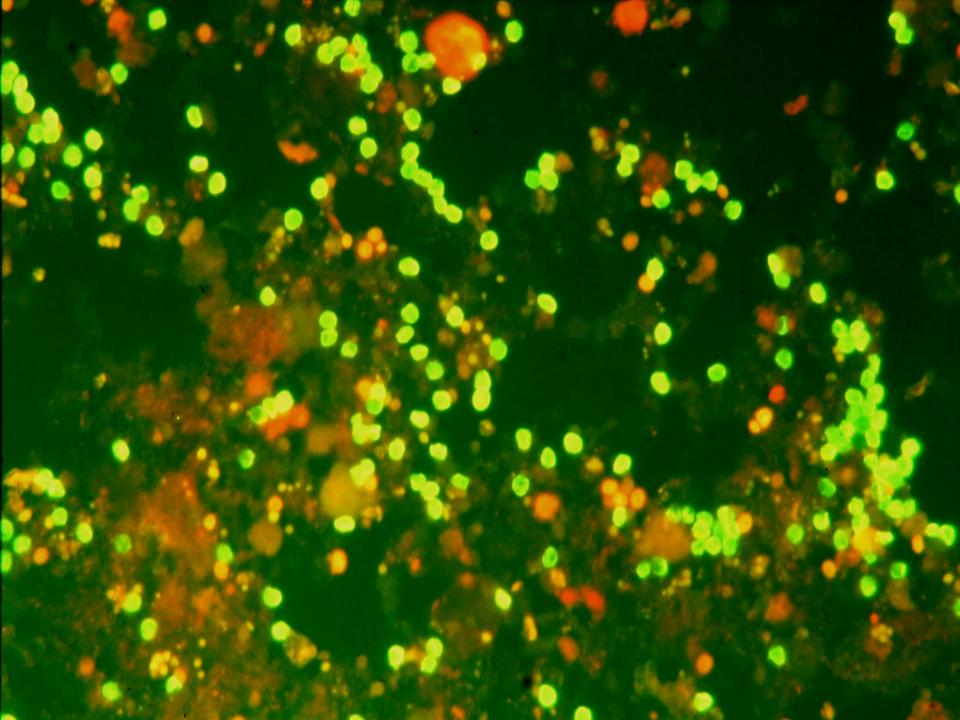
✓ trasmissione:
- feco-orale; (prevalente)
- zoonosi;
- aerogena ??

✓ forma infettante: oocisti mature tetrasporulate (con quattro sporozoiti);

- ingestione oocisti mature (4 sporozoiti);
- liberazione degli sporozoiti a livello duodeno-digiunale;
- penetrazione negli enterociti (localizzazione intracellulare extracitoplasmatica)
- cicli successivi di replicazione asessuata →meronti di I tipo (8 merozoiti);
- merozoiti→meronti di II tipo (4 merozoiti sex differenziati) che negli enterociti si sviluppano in micro e macrogamete → zigote → oocisti;
- oocisti mature (4 sporozoiti) nel lume intestinale;

Clinica:

- l'espressività clinica dell'infezione è direttamente correlata allo stato immunitario nell'ospite;
- data l'invasione dell'epitelio intestinale, il sintomo caratteristico è una diarrea acquosa per sovvertimento dei meccanismi di assorbimento;
  - forme diarroiche autolimitanti (disidratazione!!!) (sogg. normoergico);
  - quadri di diarrea cronica e "colera-like" (sogg. immunocompromesso)

Diagnosi: rilevazione delle oocisti nel campione fecale:

- esame microscopico dopo colorazione permanente (col. di Kinyoun o Ziehl-Neelsen modificata);
- immunofluorescenza diretta;

ELMINTI

ANIMALI INVERTEBRATI appartenenti a 4 phyla:

↱ Cl. Cestoda (CESTODI)

- Ph. Platyhelminthes ("vermi piatti")

↳ Cl. Trematoda (TREMATODI)

- Ph. Nemathelminthes ("vermi tondi"); Cl Nematoda (NEMATODI)

- Ph. Acanthocephala
- Ph. Annelida

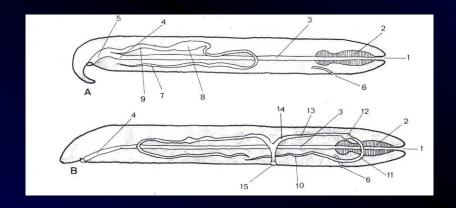
PRINCIPALI ELMINTI INTESTINALI

Nematodi	*Enterobius vermicularis* geoelminti (*Trichuris trichiura; Ascaris lumbricoides; Ancylostoma duodenale; Necator americanus*) *Strongyloides stercoralis*
Cestodi	*Taenia saginata* *Taenia solium* *Diphillobothrium latum*

Ph. Nemathelminthes; Cl. Nematoda

NEMATODI

✓ specie parassite obbligate, facoltative e specie a vita libera;

✓ ADULTI: corpo rotondo, non segmentato, con estremità affusolate (1mm – 50 cm)

✓ intestino completo; app. escretore completo; a sessi separati (dimorfismo sessuale); privi di app. respiratorio e circolatorio;

✓ lo sviluppo a forma adulta prevede il passaggio attraverso 4 stadi larvali ("legge delle 4 mute")

Enterobius vermicularis

↱ uova infestanti (L3) → ingestione → ADULTO nell'intestino

Trichurus trichiura

N. Intestinali
adulti nel canale intestinale → uova → maturazione nel terreno → uova (L3) → ingestione → ADULTO nell'intestino

↓ migrazione polmonare di L4 → ADULTO nell'intestino

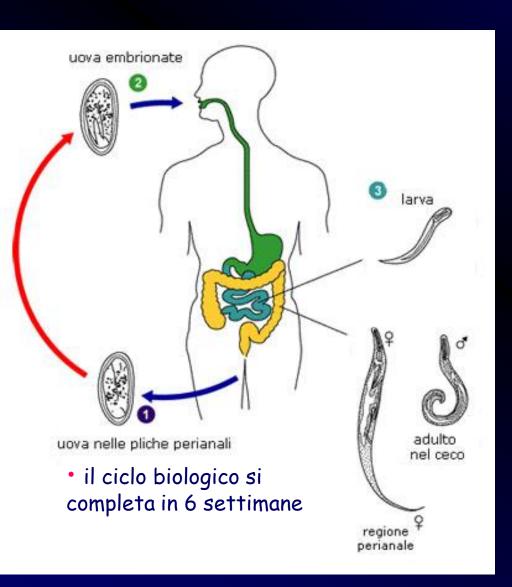
Ascaris lumbricoides

↳ uova schiudono terreno → L3 nel terreno

↓ penetrazione transcutanea → m. polmonare → ADULTO nell'intestino

Ancylostoma/Necator (Hookworm);
Strongyloides stercoralis

elminti intestinali: *Enterobius vermicularis*

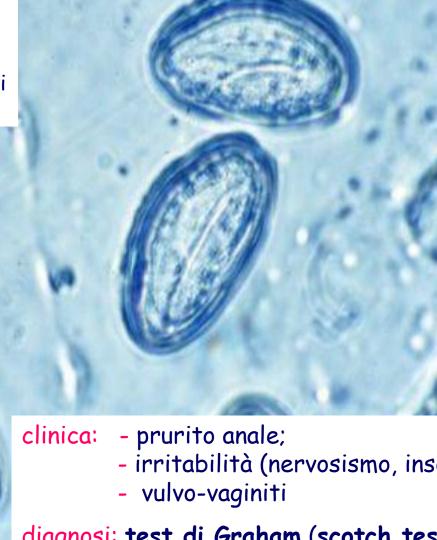
- il ciclo biologico si completa in 6 settimane

✓ ossiuriasi (enterobiasi): infestazione più diffusa nei paesi industrializzati; età pediatrica

✓ ubiquitaria;

✓ *E. vermicularis* è un nematode monoxeno; specifico dell'uomo; (unico reservoir);

✓ trasmissione è interumana diretta e/o indiretta: tramite ingestione delle uova mature deposte dalla femmina tra le pliche perianali;

uova *Enterobius vermicularis*

- dimensioni 50 x 20 µm;
- molto adesive (contaminano biancheria, suppellettili);
- resistenti ai comuni disinfettanti, sensibili al calore (60°);

clinica:
- prurito anale;
- irritabilità (nervosismo, insonnia
- vulvo-vaginiti

diagnosi: **test di Graham (scotch test)**

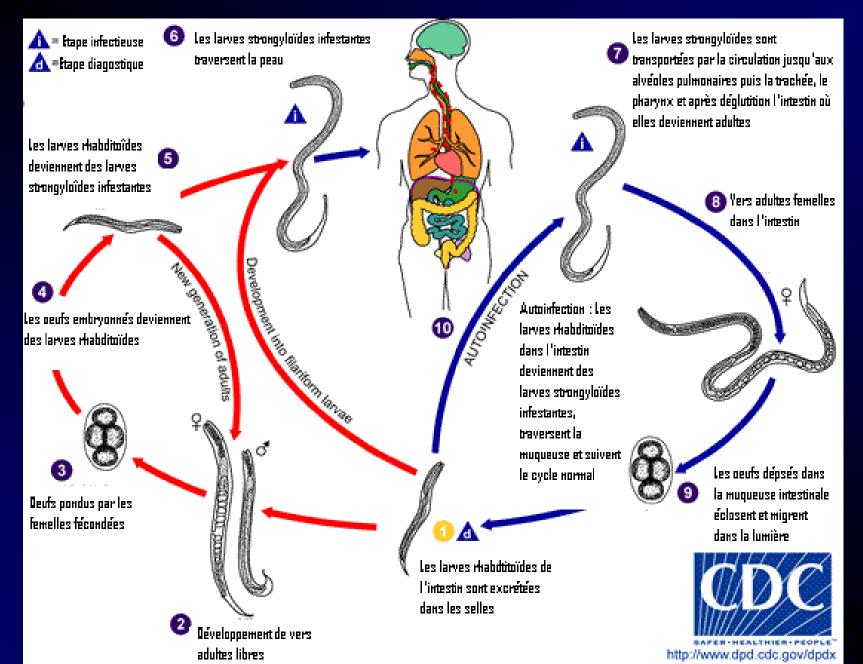
Strongyloides stercoralis

- nematode, parassita facoltativo monoxeno umano;

- diffuso in aree tropicali e sub-tropicali con aree di endemia anche in zone temperate: climi caldi umidi (pianura Padana);

- infestazione per penetrazione transcutanea delle larve eliminate con le feci dai soggetti parassitati e maturate nel terreno: legata alla fecalizzazione dell’ambiente e ad attività agricole condotte manualmente (mondine);

- la popolazione a > rischio è infatti rappresentata dai soggetti anziani: l’infestazione può durare decenni;

ciclo vitale…

Clinica:

- ✓ s. normoergico: pauci/asintomatico (eosinofilia);
- ✓ s. immunocompromesso:
  - sindrome da iperinfestazione (↑ carico larvale per amplificazione L1→L3 endogena: larve nell'escre-ato);
  - forme disseminate (mortalità 80%)

↓

- terapie corticosteroidee;
- neoplasie;
- emopatie;
- malattie autoimmuni;
- trapiantati;

Diagnosi:

- ✗ concentrazione di Baermann;
- ✗ esame colturale;

Terapia: ivermectina

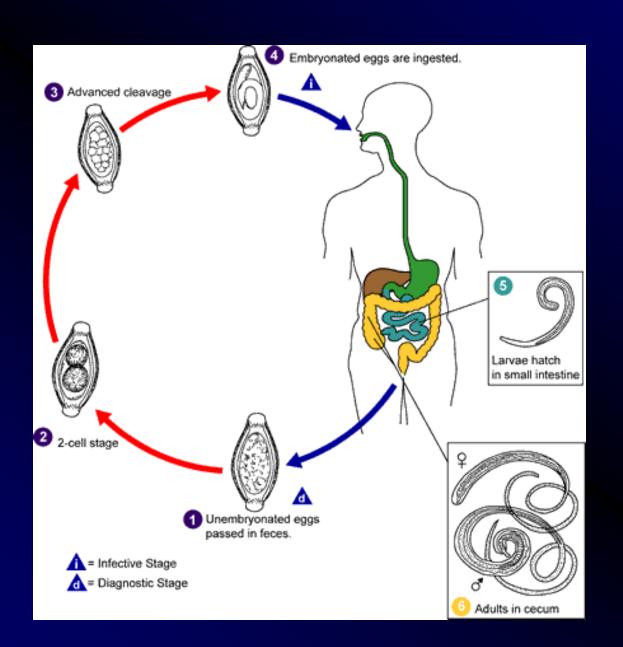
Larva L1 (rabditoide) S. stercoralis
- 200-300 µm;
- estremità affilata;

Larva L3 (filarioide) Strongyloides stercoralis
- 500-600 µm;
- coda "bifida";
- larva infestante

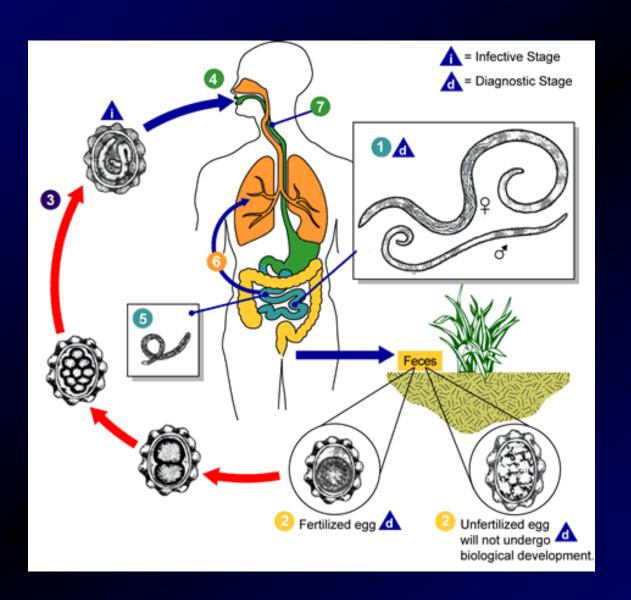
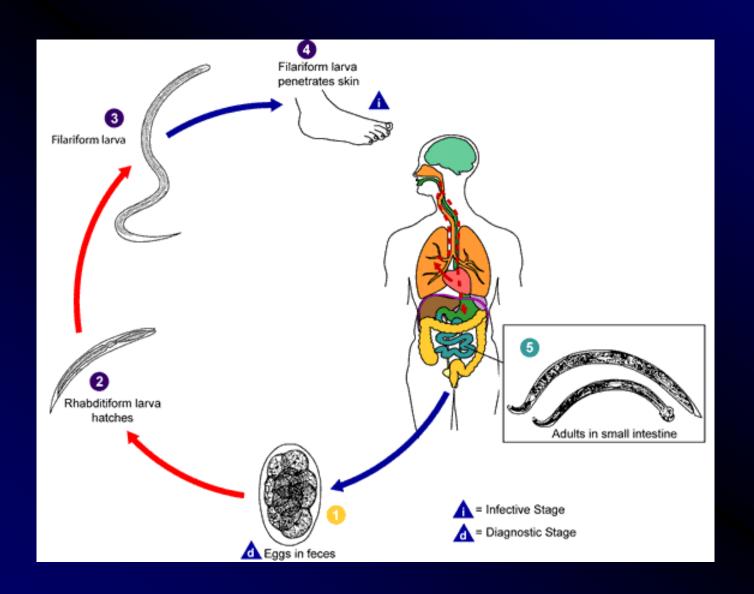
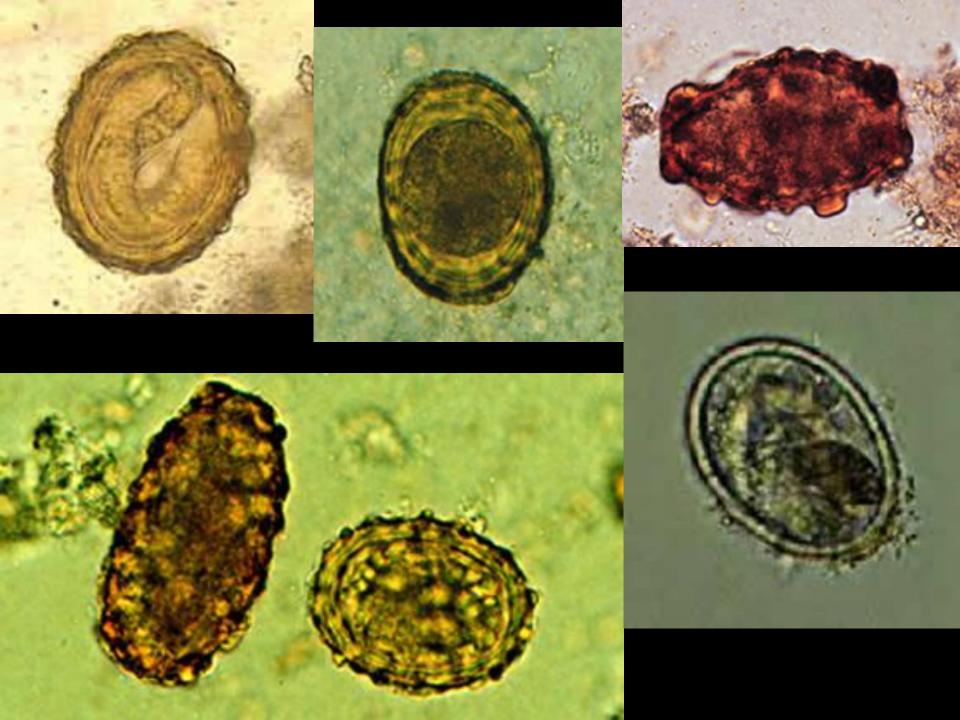
femmina adulta, larve a diversi stadi
maturativi e uova

Geoelminti

- *Trichurus trichiura*
- *Ascaris lumbricoides*
- Ancilostomidi (*Ancylostoma duodenale/Necator americanus*)

Trichiurus trichura

Ascaris lumbricoides

Hookworm

4
Filariform larva penetrates skin
i
3
Filariform larva
2
Rhabditiform larva hatches
5
Adults in small intestine
1
d
Eggs in feces
i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage

Patogenesi

- danno meccanico (ostruzione);

- carenza di elementi nutritivi (anemia da privazione;
  deficit staturo-ponderale);

- manifestazioni allergiche (dermatite; s. di Loeffler);

Clinica direttamente correlata alla "carica parassitaria"

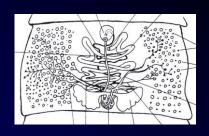
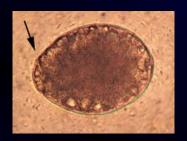
Terapia: derivati imidazolici (mebendazolo…)

Ph. Platyhelminthes, Cl. Cestoda

CESTODI

✓ parassiti obbligati eteroxeni: *gli adulti vivono nell'intestino dell'ospite definitivo; le fasi larvali nei tessuti degli ospiti intermedi;*

✓ ADULTI: corpo piatto segmentato (scolice; collo; strobilo);

✓ strobilo è formato da n° variabile di proglottidi (3-3000: 3mm - 12 m);

✓ ermafroditi;

✓ privi di app. respiratorio, digerente e circolatorio; app. escretore primitivo ;

Taenia saginata, Taenia solium

- *T. saginata* :

- uomo: osp. DEFINITIVO

- bovino: osp. INTERMEDIO;

- ubiquitaria: presente anche in Italia a bassa prevalenza;

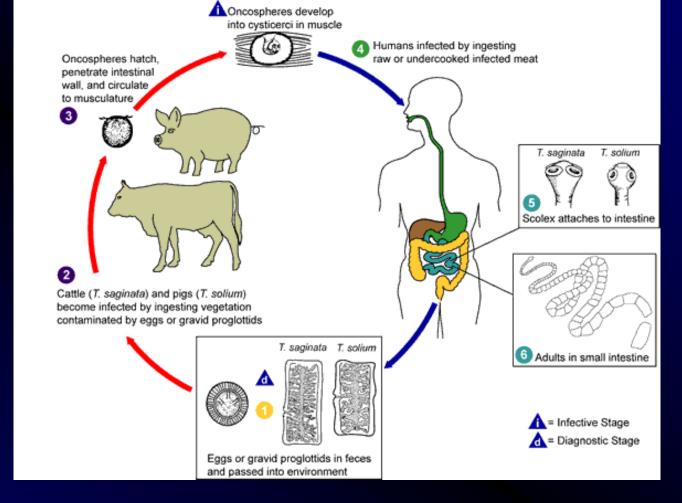
- uova di *T. saginata* non sono infestanti per l'uomo solo per bovini;

- *Taenia solium* :

-

- uomo: osp. DEFINITIVO
- suino: osp. INTERMEDIO;

- uova di *T. solium* sono infestanti anche per l'uomo : se ingerite diventa ospite intermedio → cisticercosi (sviluppo di larve a livello sottocutaneo, muscolare, cerebrale);

- assente in Italia: casi importati;

- infestazione umana per ingestione carne (bovina o suina) cruda o poco cotta contaminata dalle larve;
- verme adulto (4-8 m) si localizza nel tenue (scolice, collo, strobilo costituito da proglottidi in vari stadi maturativi);
- proglottidi mature eliminate con le feci contaminano l'ambiente con uova embrionate infestanti;

clinica: - infestazioni intestinali sono asintomatiche;
- cisticercosi: crisi epilettiche e s. da ipertensione endocranica (in relazione al carico larvale)

diagnosi: - rilievo di proglottidi (p. di *T. saginata* forzano attivamente lo sfintere anale; p. di *T. solium* sono trasportate passivamente dalle feci);
- rilievo di uova nelle feci (eliminate dalle proglottidi);
- eliminazione del verme adulto;

terapia: praziquantel; niclosamide

uovo di *Taenia* spp
Proglottide di Taenia spp